植物分类学报 44 (1): 64–71(2006) doi:10.1360/aps040041
Acta Phytotaxonomica Sinica http://www.plantsystematics.com

中国金色藻属四个新记录种的超微结构研究

[2]胡晓燕 [1]殷明焱 [1]夏 娃 [1]曾呈奎
[1](中国科学院海洋研究所 青岛 266071)
[2](中国科学院研究生院 北京 100039)

Ultrastructure studies on four newly recorded species of *Chrysochromulina* (Haptophyta) in China

[2]HU Xiao-Yan [1]YIN Ming-Yan [1]XIA Wa [1]TSENG Cheng-Kui
[1] (*Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences*, Qingdao 266071, China)
[2] (*The Graduate School of the Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100039, China)

Abstract Members of *Chrysochromulina* are important components of marine phytoplankton. Four species in this genus are reported in China for the first time, namely *Chrysochromulina cymbium* Leadbeater & Manton, *C. hirta* Manton, *C. megacylindra* Leadbeater, *C. pringsheimii* Parke & Manton. Their ultrastructures were studied under electron microscope.

Key words *Chrysochromulina*, ultrastructure, new record, phytoplankton, China.

摘要 金色藻属*Chrysochromulina*的种类是海洋浮游植物的重要组成成分。报道了该属在我国的4个新记录种,即虫鳞金色藻*Chrysochromulina cymbium* Leadbeater & Manton、毛刺金色藻*C. hirta* Manton、粗柱金色藻*C. megacylindra* Leadbeater和普氏金色藻*C. pringsheimii* Parke & Manton,并在电子显微镜下观察了细胞的超微结构。

关键词 金色藻属; 超微结构; 新记录种; 浮游植物; 中国

金色藻属*Chrysochromulina*是Lackey于1939年基于在北美发现的淡水鞭毛藻小金色藻*Chrysochromulina parva*建立的。该种也是之后15年该属唯一的已知种。到20世纪50年代,Parke等(1955)首先采用光学显微镜结合电子显微镜观察全标本投影的方法描述了海洋环境中该属的3个种。她们引入了定鞭(haptonema)来代表Lackey 描述的“第3根鞭毛”,并描述了细胞表面的特征性的非矿化鳞片。随着电子显微镜的使用,随后报道的金色藻属的种类数量不断增加,至2003年共描述了56种(Puigserver et al., 2003),成为定鞭藻门Haptophyta普林藻纲Prymnesiophyceae中种类最多的一个属(不包括化石种类)。多数的记录种生活在海洋中,是海洋中微型浮游植物群落的重要组成成分。例如Hajdu等(1996)对北波罗的海的一个沿岸区域和一个富营养化入海口的金色藻属进行了4年(1985–1988)的研究,发现在两个区域中金色藻属的种类都是浮游植物群落的常有种,并且在夏季和初秋占微型浮游植物的大部分(达65%),偶尔会占到浮游植物生物量的一半。

由于该属的种类小而脆弱,用常规的固定方法难以保存,因此不能采用常规采集和固定浮游植物的方法进行研究,而且大多数种类对环境条件的要求比较苛刻,分离和培养比较困难。对于海洋种类的研究,国内只有高玉等(1992)在我国山东胶州湾观察到了该属的3

2004-04-14 收稿, 2004-09-23 收修改稿。

个种。我们从2000年开始在山东沿岸持续采集的水样中分离和培养了15种金色藻,说明我国沿海的金色藻属种类较丰富。

1　材料和方法

1.1　单藻克隆的获得和培养

2000年起从山东沿海采集海水样品,采用显微操作技术反复挑取单个细胞,用PES(Provasoli Enriched Seawater)培养基富集培养,然后在光学显微镜下挑选无杂藻污染的株系,在20 ℃,50 μmol photons·m^{-2}·s^{-1},12 h:12 h的光暗循环条件下培养。

1.2　负染色样品的制备

培养的藻细胞滴在铜网上,1%锇酸固定后干燥,用蒸馏水洗去盐结晶,然后用醋酸双氧铀染色15 min,干燥后用蒸馏水冲洗,再干燥后在JEM-1200EX透射电镜下观察。

1.3　整体投影制作

培养的藻细胞滴在电镜铜网上,1%锇酸蒸汽固定后干燥,用蒸馏水洗去盐结晶,干燥后喷金,在JEM-2000EX透射电镜下观察。

1.4　超薄切片制作

藻细胞用2.5%戊二醛前固定4 h,离心后用0.2 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.2)冲洗,用1%锇酸后固定,再次用0.2 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.2)冲洗。然后按常规方法采用系列浓度丙酮脱水,Epon-812树脂包埋,聚合后切片,醋酸铀和柠檬酸铅双染后,在JEM-1200EX透射电镜下观察。

2　观察结果

2.1　盅鳞金色藻　图1–4

Chrysochromulina cymbium Leadbeater & Manton in Arch. Mikrobiol. 68: 132, figs. 16-25. 1969.

细胞椭圆形,7×5 μm。顶端中央凹陷,尾部略尖。两条鞭毛等长,13–15 μm,定鞭易卷曲,完全伸展后长30–50 μm。超薄切片中细胞一般有2个色素体,侧生,每个有一个包埋的蛋白核。细胞核较大,居中位于后部,核仁明显。高尔基体在细胞核的上方,高尔基体的囊泡呈扇面垛叠,囊泡面向细胞核的一端膨大。线粒体一般集中在高尔基体的上方,邻近鞭毛的基体,在色素体和细胞核之间也有4–5个线粒体。过定鞭的切面显示定鞭由6根微管组成。细胞外被两种鳞片,内层盘状鳞片椭圆形至圆形,0.2×0.25 μm,有约30条放射脊由鳞片中央发散到边缘,在每两条放射脊之间有一条细纹,由中央向外发散,但未到鳞片的边缘;鳞片的边缘有一条宽约20 nm的环带,环带上约有30个穿孔。外层鳞片杯状,有圆形的钵部和锥形的底部,钵部直径0.12–0.13 μm,杯深0.10–0.12 μm,由锥形底部向上有细的条纹。

从2001年11月在青岛沿岸采集的海水样品中分离到本种,随后在山东荣成沿岸也观察到本种的分布,是我国新记录。

分布:已报道的分布除英国外,还在挪威卑尔根沿岸发现(Leadbeater, 1972)。

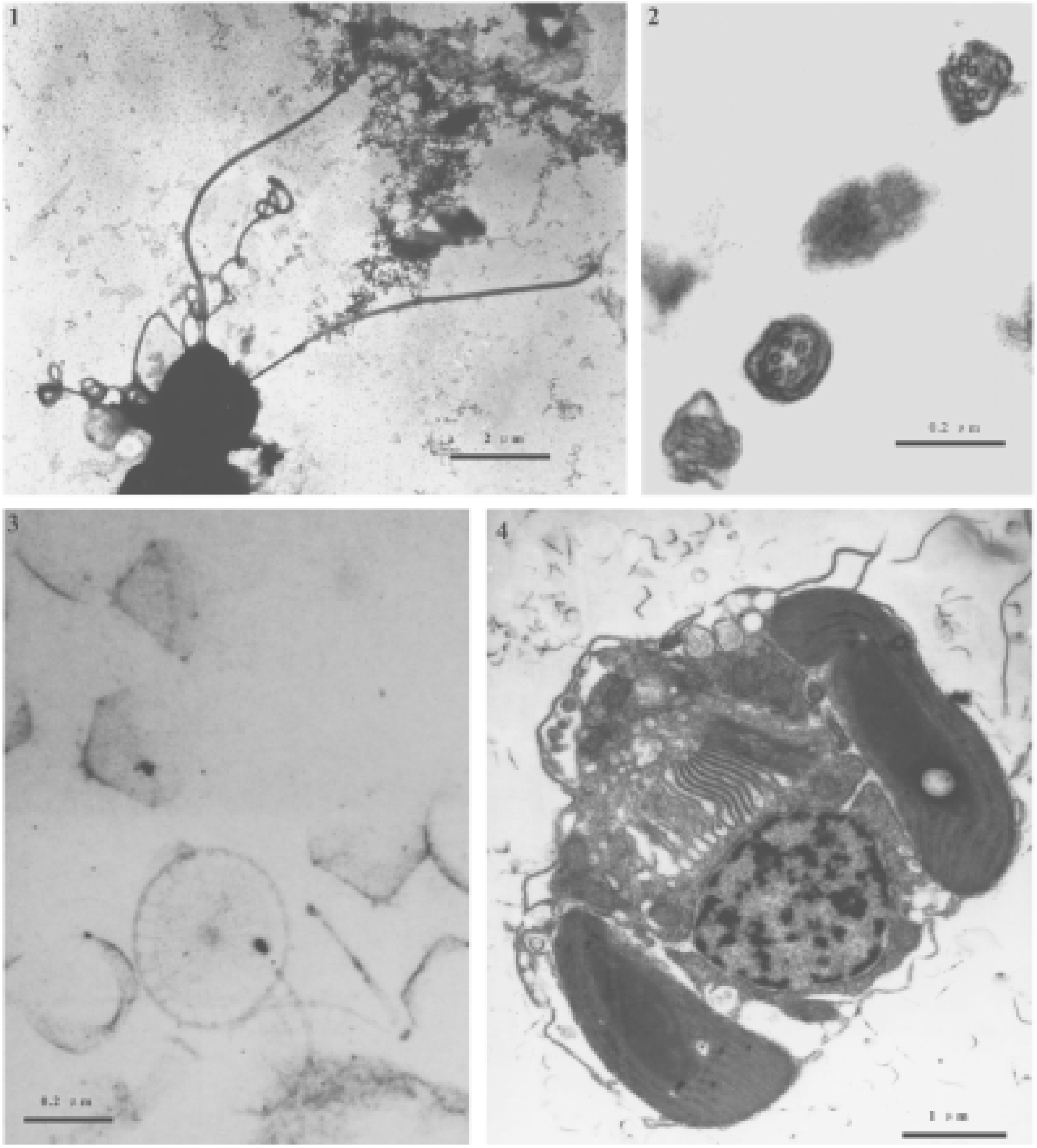

图1–4 盅鳞金色藻的超微结构 **1.** 细胞的鞭毛和卷曲的定鞭。**2.** 细胞定鞭的横切面。**3.** 超薄切片中的盘状鳞片和杯状鳞片。**4.** 细胞的纵切面。

Figs. 1–4. Ultrastructures of *Chrysochromulina cymbium*. **1.** Flagella and coiled haptonema of the cell. **2.** Transverse section through the haptonema. **3.** Plate scales and cup scales in ultrathin section. **4.** Longitudinal section through the cell.

2.2 毛刺金色藻 图5–8

Chrysochromulina hirta Manton in British Phycol. J. 13: 13, figs. 1–12. 1978.

细胞椭圆形,5×7 μm;两条鞭毛等长,约20 μm;定鞭完全伸展后可达50 μm。细胞外被3种鳞片。长刺鳞为15–20 μm,在基部为4个相邻的三角形扶壁,向上延伸并逐渐变细至刺鳞距基部1/3处扭转相互缠绕;短刺鳞长5 μm,附着的鳞片在向心面有放射脊纹饰，但未延伸

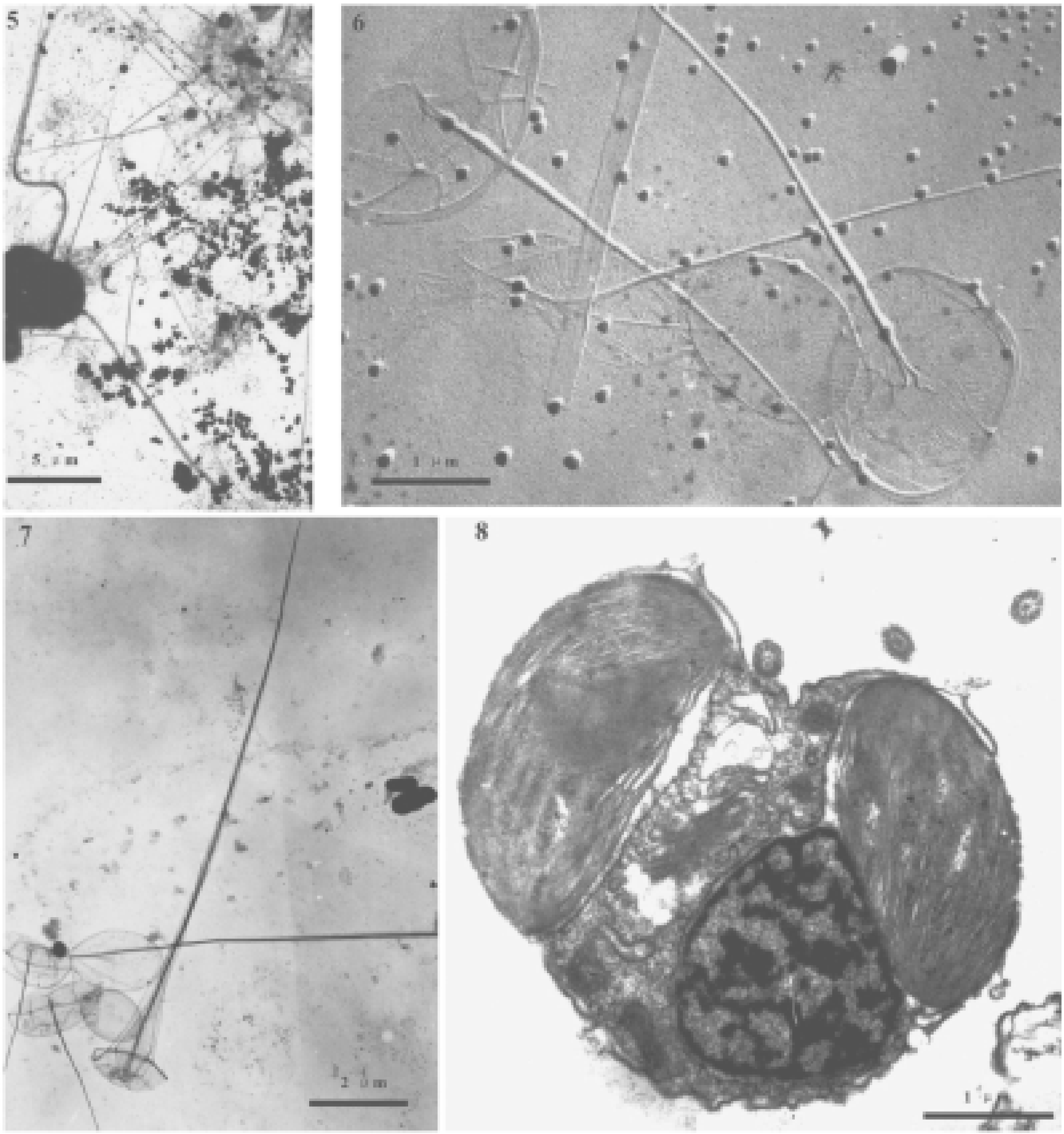

图5–8 毛刺金色藻的超微结构 **5.** 细胞的鞭毛和卷曲的定鞭及散落的刺鳞。**6.** 盘状鳞片和刺鳞的投影图。**7.** 刺鳞和盘状鳞片的负染色图。**8.** 细胞的横切面。

Figs. 5–8. Ultrastructures of *Chrysochromulina hirta*. **5.** Flagella and coiled haptonema of the cell, with scattered spine scales. **6.** Shadow cast of plate scales and spine scales. **7.** Negatively stained scales. **8.** Transverse section through the cell.

到边缘,边缘处有一宽约8 nm的环形带;背心面纹饰为不规则细条纹。内层鳞片扁平,椭圆形,0.9–1.2×1.2–1.5 μm,向心面为放射脊纹饰,背心面为同心纹和不规则条纹。超薄切片显示,细胞有两个色素体,每个色素体有一个包埋的蛋白核。细胞核较大,位于后部,靠近一个色素体,色素体内质网明显,高尔基体位于细胞的前部。

从2003年6月6日在青岛沿岸采集的水样中分离,是我国沿岸的新记录种。这一种分布广泛,其分布区域是世界范围的冷温水区,在夏季的欧洲、南阿拉斯加和西北航道都有记录

(Manton, 1978)。

2.3 粗柱金色藻 图9–12

Chrysochromulina megacylindra Leadbeater in Sarsia 49: 67, figs. 4–9. 1972.

细胞球形,直径6–7 μm,顶部稍平,尾部略尖,腹部有一凹槽。鞭毛等长,11–13 μm,定鞭与鞭毛约等长。游动细胞一般将鞭毛指向后方，定鞭卷曲;静止时鞭毛和定鞭都伸直指向

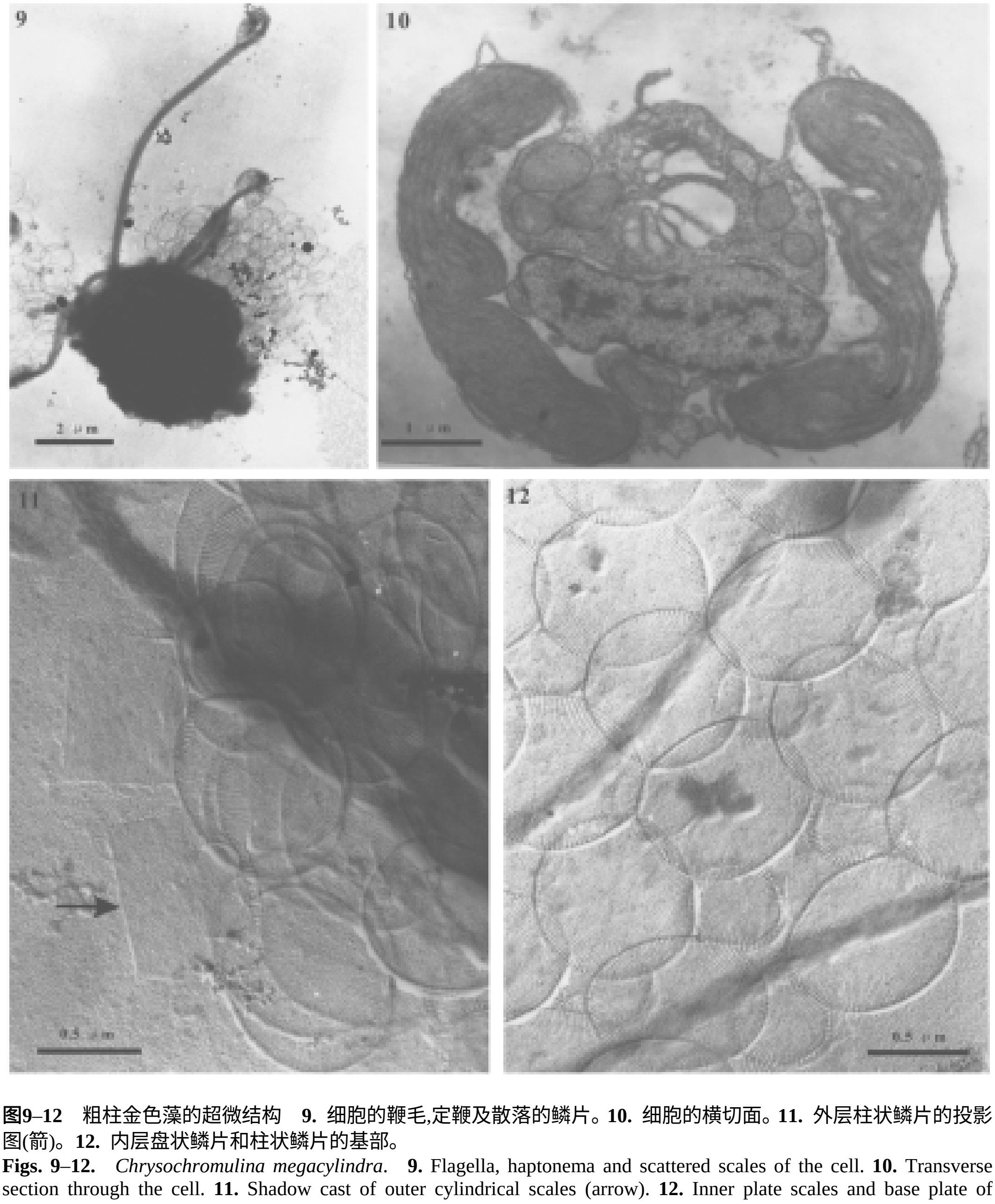

图9–12 粗柱金色藻的超微结构 **9.** 细胞的鞭毛,定鞭及散落的鳞片。**10.** 细胞的横切面。**11.** 外层柱状鳞片的投影图(箭)。**12.** 内层盘状鳞片和柱状鳞片的基部。

Figs. 9–12. *Chrysochromulina megacylindra*. **9.** Flagella, haptonema and scattered scales of the cell. **10.** Transverse section through the cell. **11.** Shadow cast of outer cylindrical scales (arrow). **12.** Inner plate scales and base plate of cylindrical scales.

前方。鳞片有两种类型,内层亚圆形盘状,边缘稍微加厚,直径1.0 μm,有放射状脊,中央有一个两边都能看到的不明显的十字结构,但在背心面的边缘有一小圈具有向心条纹的环形带。外层鳞片为直立圆柱形,较细,直径0.5 μm,长0.5–0.7 μm,基部鳞片也较小,直径为0.5 μm。基部鳞片的数量较少,一般着生在4个相邻盘状鳞片的中间,因此与盘状鳞片的比例大约为2∶1。它的向心面的纹饰与盘状鳞片相同,但在近边缘处有一环形的脊,背心面没有显著的纹饰。超薄切片表明有两个侧生色素体,每个色素体有一个包埋的蛋白核,有1–2条微管穿过。核较大,位于细胞的后部,核膜和核孔明显。一个高尔基复合体位于细胞的前部,与核相对。高尔基体的一些泡囊膨大,另一些扁平。线粒体1–2个,管状嵴。

除挪威外,亚德里亚海和地中海(Leadbeater, 1972)、南斯拉夫沿岸和阿尔及尔湾(Leadbeater, 1974)也发现本种的分布。2001年11月15日在胶州湾采集到本种,是我国新记录。

2.4 普氏金色藻 图13–17

Chrysochromulina pringsheimii Parke & Manton in J. Mar. Biol. Ass. U.K. 42: 400, figs. 1–36. 1962; Hallegraeff in Bot. Mar. 26: 497, fig. 14a–c. 1983.

细胞一般椭圆形至球形,前端有凹陷,后端平截,长4.8–6.4 μm,宽5.6–6.4 μm。鞭毛和定鞭由前端的凹陷处伸出,两条鞭毛等长,20–25 μm,定鞭一般卷曲,伸展后约16 μm。细胞外被4种鳞片。在细胞两极各有2–3条极长的刺鳞,刺长7–8 μm,通过4条向下延伸的支柱固着在基部鳞片上;基部鳞片椭圆形,1.3×1.5 μm,背心面有卷起的边缘,无纹饰,向心面有分布在4个象限的放射脊。外层鳞片具刺,刺长0.7–0.9 μm,刺向下延伸为4条支柱,附着在基部鳞片的边缘;在固定后刺有时会从基部鳞片上脱落,有时4条支柱中的1–2条会产生弯折;刺的向心面和背心面都为放射脊纹饰,在背心面边缘向上卷起。内层鳞片椭圆形,非常薄,0.9–1.1×1.2–1.4 μm,鳞片的两面都可见放射脊纹饰,分布在4个象限内,在背心面的边缘有宽约0.08 nm的环带,环带上有模糊的同心纹。另外一种小的鳞片分布在细胞的两端,鳞片椭圆形至圆形,0.6–0.7×0.7–0.9 μm,两面都为放射脊纹饰,在背心面边缘有一圈环带,围绕中央的放射脊。

这是一个分布广泛的种类,在英国(Parke & Manton, 1962)、挪威(Leadbeater, 1972)和澳大利亚(Hallegraeff, 1983)都有报道。从2003年8月3日在青岛沿岸采集的海水样品中分离到本种,是我国新记录。

3 讨论

金色藻属的种类的细胞一般小于20 μm,仅依据光镜下的特征很难鉴定,必须借助电镜才能区分种类。主要的分类性状有:细胞的大小和形状、有机质鳞片纹饰、鞭毛和定鞭长度以及蛋白核的定位等,其中鳞片的超微结构是种类鉴定的重要性状。在山东沿岸采集到的本文记载的种类的细胞形态和鳞片的超微结构与模式标本基本一致。

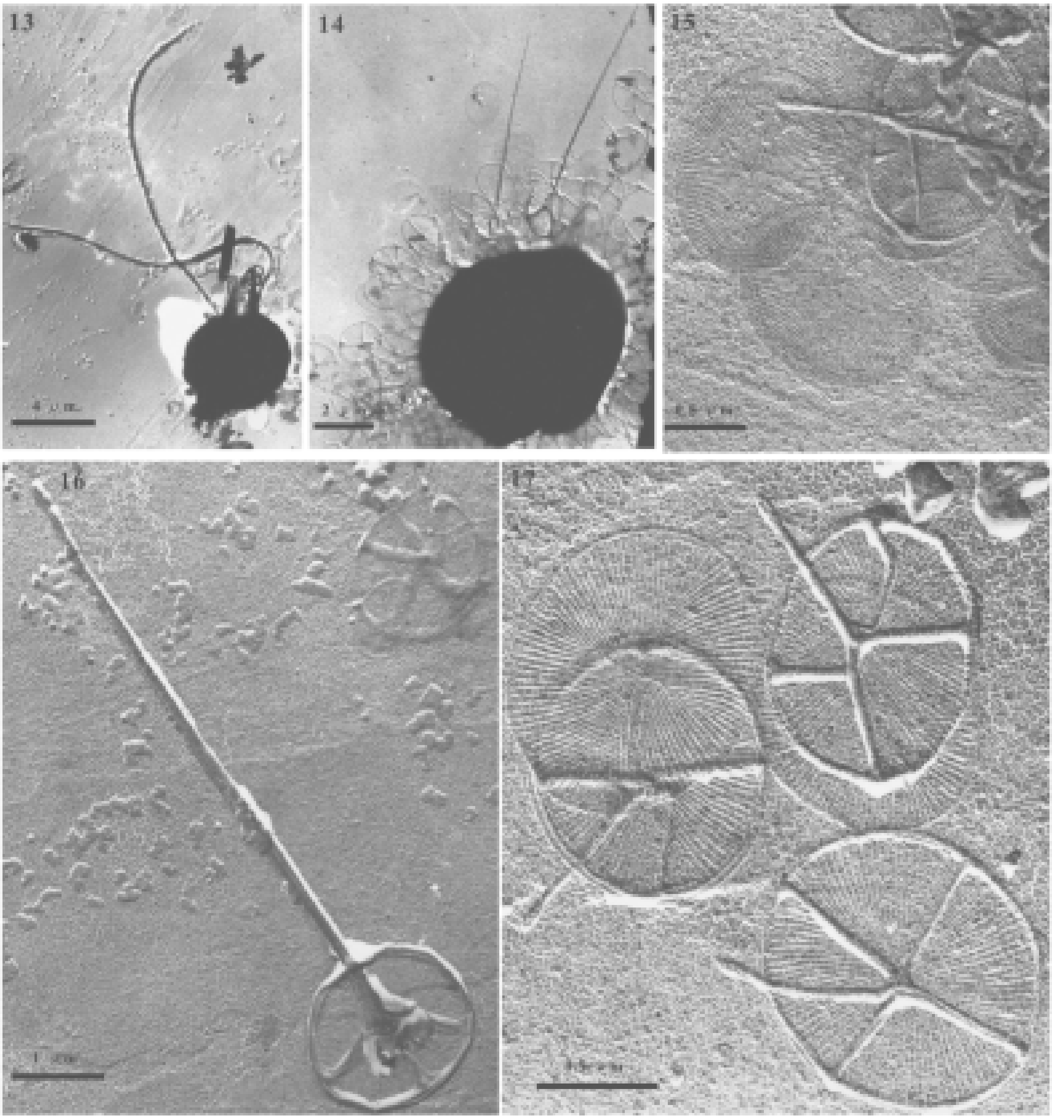

图13–17 普氏金色藻的超微结构 **13.** 细胞的鞭毛和卷曲的鳞片。**14.** 细胞和散落的鳞片。**15.** 盘状鳞片。**16.** 长刺鳞。**17.** 短刺鳞。

Figs. 13–17. Ultrastructure of *Chrysochromulina pringsheimii*. **13.** Flagella and coiled haptonema of the cell. **14.** Cell and scattered scales. **15.** Plate scales. **16.** Long spine scale. **17.** Short spine scales.

根据我们的观察和研究,我国金色藻属的种类分布相当广泛,种类也很多,为浮游植物群落的优势种群之一,我们在青岛沿海曾观察到其细胞密度达到10000个/L以上。目前已记录的种类只是海洋中所有种类的一部分,估计金色藻属共有100种以上(Thomsen et al., 1994)。今后对于普林藻纲种类的研究应在经典分类的基础上,结合分子生物学和生物化学等方面的研究手段,进行深入的生理生态学和系统进化的研究。

参 考 文 献

Gao Y (高玉), Tseng C-K (曾呈奎), Guo Y-J (郭玉杰). 1992. Nanoplankton. In: Liu R-Y (刘瑞玉) ed. Ecology and Bioresources of Jiaozhou Bay (胶州湾生态学和生物资源). Beijing: Science Press. 203–219.

Hajdu S, Larsson U, Moestrup Ø. 1996. Seasonal dynamics of *Chrysochromulina* species (Prymnesiophyceae) in a coastal area and a nutrient-enriched inlet of the northern Baltic proper. Botanica Marina 39: 281–295.

Hallegraeff G M. 1983. Scale-bearing and loricate nanoplankton from the East Australian Current. Botanica Marina 26: 493–515.

Leadbeater B S C. 1972. Fine structural observations on six new species of *Chrysochromulina* (Haptophyceae) from Norway with preliminary observations on scale production in *C. microcylindra* sp. nov. Sarsia 49: 65–80.

Leadbeater B S C. 1974. Ultrastructural observations on nanoplankton collected from the coast of Jugoslavia and the Bay of Algiers. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 54: 179–196.

Leadbeater B S C, Manton I. 1969. *Chrysochromulina camella* sp. nov. and *C. cymbium* sp. nov., two new relatives of *C. strobilus* Parke and Manton. Archiv für Mikrobiologie 68: 116–132.

Manton I. 1978. *Chrysochromulina hirta* sp. nov., a widely distributed species with unusual spines. British Phycological Journal 13: 3–14.

Parke M, Manton I. 1962. Studies on marine flagellates. VI. *Chrysochromulina pringsheimii* sp. nov. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 42: 391–404.

Parke M, Manton I, Clarke B. 1955. Studies on marine flagellates. II. Three new species of *Chrysochromulina*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 34: 579–604.

Puigserver M, Chretiennot-Dinet M J, Nezan E. 2003. Some Prymnesiaceae (Haptophyta, Prymnesiophyceae) from the Mediterranean Sea, with the description of two new species: *Chrysochromulina lanceolata* sp. nov. and *C. pseudolanceolata* sp. nov. Journal of Phycology 39: 762–774.

Thomsen H A, Buck K R, Chavez F P. 1994. Haptophytes as components of marine phytoplankton. In: Green J C, Leadbeater B S C eds. The Haptophyte Algae. The Systematics Association Special Volume No. 51. Oxford: Clarendon Press. 187–208.